171-172

动 物 学 研 究 1998, 19 (2): 171—172　　CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

云南 6 个地区恒河猴蛋白多态及遗传多样性研究*

GENETIC DIVERSITY AMONG *Macaca mulatta* FROM SIX REGIONS IN YUNNAN PROVINCE BASED ON PROTEIN ELECTROPHORESIS

丁波 张亚平

关键词 恒河猴，蛋白电泳，遗传多样性

Key words *Macaca mulatta*, Protein electrophoresis, Genetic diversity

中图分类号 Q959.848

恒河猴（*Macaca mulatta*）隶属于灵长目（Primates）猴科（Cercopithecidae）猕猴属（*Macaca*），为国家Ⅱ级保护动物和重要的实验灵长类动物。关于恒河猴不同地理群体及其亚种之间的系统发育关系国际国内一直颇有争论，焦点主要集中在亚种数目、亚种的分界及亚种间的基因流问题。

就我国恒河猴的栖息地环境而言，其类型是十分复杂多样的，有热带季雨林、南亚热带常绿阔叶林、中亚热带常绿阔叶林和北亚热带落叶阔叶林。除上述森林类型分布外，我国恒河猴尚有少数居群生活在非森林地带，如金沙江流域及其部分支流地区。云南地处祖国西南边疆，由于特殊的地理位置、地形地貌、气候条件、生态环境及民族文化传统，动物资源种类繁多。恒河猴在云南山区分布较广。为了解云南各地区恒河猴的遗传背景及各地理类群的遗传结构状况，本研究采用蛋白电泳技术，对来自云南6个地区的恒河猴进行了群体多样性研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料 本实验分别抽取了4只华坪、3只永胜、8只景东、5只云龙、14只南华和13只昌宁地区的恒河猴的血浆。每只动物静脉取血 5 ml，肝素抗凝。室温下以 1000 r/min 离心 10 min，吸取上层的血浆部分，下层血细胞部分以5倍体积生理盐水洗涤，再以 1000 r/min 离心 10 min，弃去上清液。重复洗涤1次，将离心得到的红细胞部分加入少量蒸馏水使细胞破碎形成红细胞溶血液。经上述处理的血浆和红细胞溶血液两部分样品冻存于-70℃冰箱中备用。

1.2 淀粉胶电泳 本实验采用水平式淀粉胶蛋白电泳技术，所用水解淀粉为商品马铃薯淀粉经酸水解而成。所用淀粉胶的浓度为 12%。电泳缓冲系统如下：(1) Tris-Citrate (pH7.0)；(2) Tris-Malate-EDTA (pH8.0)；(3) Tris-Borate-EDTA (pH8.0)；(4) Borate-NaOH (pH8.0)；(5) Tris-Borate-EDTA (pH8.6)。共对 32 个遗传座位进行了电泳分析，各种酶的组织化学染色方法参照前人的报道（Shaw 等，1970）。

1.3 数据处理 根据蛋白电泳测得的多个等位基因频率，计算每个基因的平均数（A）和遗传多样性指数（h）及平均杂合度（H）(Pasture 等，1990)。

2 结果与讨论

对分别来自云南省华坪、永胜、景东、云龙、南华和昌宁6个地区的47只恒河猴群体进行了32个遗传座位的分析。通常用以衡量群体蛋白多态性的指标包括：多态座位百分比（P 值）、平均杂合度（H

---

* 国家自然科学基金、云南省科委、中国科学院和中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室资助项目

本文 1996-05-30 收到，1997-05-05 修回

值）和平均等位基因数（*A* 值）。我们根据蛋白电泳带型推断基因型，并由此计算相应的基因频率和平均杂合度。LDH、MDH 等 25 个座位都是单态，在 HK、PHI、6PGD、DIA、ADA、G6PD 和 TF 等 7 个座位中发现多态。且 TF 座位中，发现有 6 个等位基因。华坪和昌宁群体具有 A、B、C、D、E 5 个等位基因；永胜群体只有 B、E 2 个等位基因；景东群体具有 B、C、D、E、F 5 个等位基因；云龙群体具有 B、C、D、E 4 个等位基因；南华群体具有全部 A、B、C、D、E、F 6 个等位基因，且基因频率不相似。HK 中，华坪、永胜、景东和云龙群体只有 A 等位基因，而 PHI 和 6PGD 中这 4 个群体只有 B 等位基因。我们认为，这一方面可能是受到遗传漂变的作用，A 或 B 等位基因已丢失；另一方面也可能是这 4 个群体的抽样数较少，没有反映真实的情况。

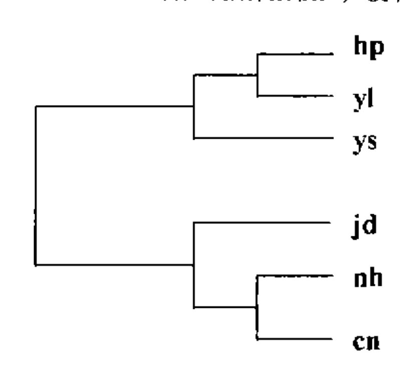


图 1 云南 6 个地区恒河猴 UPGMA 树

Fig 1 The UPGMA tree of *Macaca mulatta* from six regions in Yunnan

hp：华坪地区(Huaping)；ys：永胜地区(Yongsheng)；jd：景东地区(Jingdong)；yl：云龙地区(Yunlong)；nh：南华地区(Nanhua)；cn：昌宁地区(Changning)。

根据等位基因频率和遗传距离，采用 PHYLIP3.5c 中 NEIGHBOR 程序构建了 UPGMA 树（图 1）。从图 1 可以看出，这 6 个地理类群可以分为两支聚类：一支为华坪和云龙先聚为一小支，再和永胜聚类；另一支为南华和昌宁先聚为一小支，再和景东聚类。

由于本试验的样本量有限和蛋白电泳技术分辨率的限制，我们很难对分布非常近的这 6 个恒河猴群体的遗传分化关系作出评价。目前我们正在进行 D-环序列分析，以期对上述群体间亲缘关系作进一步探讨。

另一方面，图 1 是根据等位基因频率构建的分子系统树，它或许并没有反映群体间真正的的遗传关系远近，而是只反映了群体间在等位基因频率上存在的随机差异。由于创立者效应及群体呈片段化分布，上述 6 个群体之间表现出来的差异也许是祖先本身存在的多态性的延续。近年来，同工酶分析被广泛用于生物多样性的研究。蛋白多态性的研究显示，在哺乳动物类群中有一定水平的种内变异。多态位点百分比和平均杂合度的平均值分别为 $P=0.147$，$H=0.036$（Nevo，1984）。Smith 等给出已研究过的 47 种哺乳动物（含 200 个大陆群体）的 *H* 值为 0—0.155，而分布区域较为局限的种类 *H* 值一般小于 0.02（Smith 等，1978）。从我们的初步结果可以看出，来自云南 6 个地区的恒河猴具有丰富的地区间和地区内部的多态性，6 个群体的杂合度大小顺序为昌宁（$H=0.0652$）、景东（$H=0.0586$）、华坪（$H=0.0508$）、南华（$H=0.0483$）、云龙（$H=0.0325$）、永胜（$H=0.0295$）。

从我们对来自云南华坪、永胜、景东、云龙、南华和昌宁 6 个地区恒河猴的蛋白电泳研究的结果可以看出，恒河猴的遗传多样性在蛋白质水平上极为丰富，平均杂合度 *H* 值为 0.063，是灵长类中平均杂合度值较高的一类。70 年代，日本人 Nozawa 等曾对出口到日本的中国大陆的恒河猴进行过蛋白电泳研究，报道了较高的遗传多样性水平，平均杂合度值 $H=0.079$（Nozawa 等，1991）。恒河猴是猕猴属中最为繁盛的一个类群，种内丰富的遗传多样性可能是保持这种繁盛的重要原因，同时也是极为宝贵的遗传资源。从生物保护的角度，我们应珍惜这一资源，将遗传资源的管理纳人保护策略的制定中，使恒河猴这一重要的实验和保护动物能长久繁盛下去。

致谢 本工作在采样过程中得到刘爱华教授的大力支持和宿兵博士的帮助，在此一并致谢。

丁 波 张亚平 侯意谛
DING Bo ZHANG Ya-ping HOU Yi-di

（中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室 昆明 650223）

(*Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223)